ÉTUDE DES RELATIONS MICROFAUNE-MICROFLORE DU SOL EN PRENANT COMME EXEMPLE QUATRE ESPÈCES D'INSECTES COLLEMBOLES

par Gérard KILBERTUS

Laboratoire de Botanique et de Microbiologie, Nancy

et Guy VANNIER

Laboratoire d'Ecologie générale du Muséum national, Brunoy

RESUME

L'utilisation de techniques fines en microgravimétrie et en microscopie électronique a permis aux auteurs d'entreprendre une étude quantitative et qualitative du régime alimentaire de quatre espèces de Collemboles vivant dans la litière de forêt. Les quantités de nourriture absorbée par ces petits insectes sont très importantes si on s'en réfère à la masse de matières fécales rejetée par chaque individu (20 % du poids sec corporel). L'analyse comparée des fécès en microscopie électronique à balayage et à transmission a révélé que les espèces se partagent les ressources alimentaires dans le même biotope (spores, hyphes de champignons, algues, bactéries) et n'entrent pas en concurrence trophique respectant ainsi la règle de la coexistence interspécifique.

INTRODUCTION

Tous les spécialistes du sol s'accordent à déclarer que la majorité des Collemboles se nourrit essentiellement de champignons et de bactéries et occasionnellement de pollen ou d'autres débris végétaux en voie de décomposition.

La première observation précise est un document photographique qui révèle la présence de nombreuses spores

103e Congrès national des sociétés savantes, Nancy, 1978, sciences, fasc. III, p. 63-75.

dans le tube digestif d'un Achorutes (1). L'analyse du tube digestif par transparence à travers le corps, préalablement éclairci ou après dissection et l'examen des pelotes fécales ont été par la suite très employés pour étudier les différents constituants du régime alimentaire des Collemboles. Des espèces de surface appartenant aux genres Orchesella et Tomocerus se nourrissent surtout d'éléments mycéliens, et une douzaine de catégories d'éléments ont pu être répertoriés: spores, hyphes, membranes végétales, parenchyme, trachées, pollen, chitine, algues, phanères (soies, écailles, exuvies), cristaux, éléments amorphes (2).

L'essentiel de la nourriture est surtout représenté par des champignons et, du point de vue écologique, cette préférence alimentaire entraîne que les Collemboles sont en général plus nombreux dans les sols acides riches en mycélium (3).

Les régimes alimentaires stricts ne sont guère connus chez les Collemboles. En effet, si les hyphes de champignons sont les plus recherchés par Tomocerus flavescens dans la nature, en revanche son choix se porte de préférence sur les spores lorsqu'il est maintenu en élevage (4). Si on trouve en moyenne plus de spores que d'hyphes au niveau des excréments, il est permis de penser que les hyphes sont le plus souvent digérés et que les spores, les grains de pollen, les exuvies et autres débris végétaux sont de moindre importance dans le régime alimentaire des Collemboles (5). En outre, les particules minérales mélées aux autres éléments organiques sont plus fréquentes chez les espèces édaphiques que chez les espèces vivant à la surface du sol. Ces masses minérales peuvent avoir une valeur nutritive importante s'il s'agit d'agrégats argileux sur lesquels adhèrent des colonies bactériennes et de la matière organique (6).

Au cours d'un cycle annuel les contenus digestifs de trois espèces d'Entomobryens ont montré des variations saisonnières dans l'importance relative des quantités de

champignons et d'humus ingérés; ainsi en automne, Tomocerus ingère plus de champignons que Orchesella (7). En comparant les Tomoceridae de biotopes différents, on s'est aperçu que les populations vivant dans une couche de litière épaisse se nourrissent d'humus et d'hyphes, alors que les populations peuplant un sol avec litière clairsemée s'alimentent principalement de spores et d'éléments organiques indéterminés (8). Il est cependant difficile de préciser si les Collemboles sont plus sensibles à la quantité ou à la qualité des matières nutritives; à ce titre les résultats de l'expérience qui suit sont révélateurs: des contenus digestifs de trois espèces d'Onychiuridae vivant dans le même biotope comparés au contenu de microtubes de verre enfoncés au hasard à proximité dans le sol n'ont pas montré de différences qualitatives importantes et suggèrent que ces Collemboles n'exercent pas de choix dans leur prise de nourriture (6).

Puisqu'il est impossible de discerner les espèces de champignons ingérés par les Collemboles dans la nature, quelques auteurs ont entrepris d'élever les espèces de Collemboles sur des cultures pures de champignons et de levures et ont détecté ainsi des préférences alimentaires dans les conditions de captivité (9, 10). Si les identifications spécifiques de champignons à partir des préparations microscopiques de contenus digestifs sont délicates, il est plus commode d'inoculer ces contenus digestifs sur des milieux gélosés et ensuite d'établir la diagnose des espèces fongiques (4). Cette méthode a permis d'établir l'inventaire des germes non seulement dans les tubes digestifs, mais aussi sur les exuvies et la cuticule, les empreintes laissées par les animaux et les matières excrétées (11).

Cette revue concise des principales publications sur le régime alimentaire des Collemboles montre d'une part qu'il n'a pas encore été possible d'effectuer une approche quantitative des masses de matières nutritives

ingérées, et d'autre part qu'aucune méthode objective n'a permis de rendre compte de la composition et de la structure fine des produits qui ont transité à travers le tube digestif. Notre propos est de combler ces lacunes en utilisant les techniques précises en microgravimétrie et en microscopie électronique.

MATERIEL ET METHODES

Notre étude concerne quatre espèces de Collemboles dont les représentants vivent soit à la surface du sol, dans la litière, soit dans la strate herbacée à Mercuriales sous le couvert forestier d'une charmaie installée dans le parc du laboratoire d'Ecologie Générale à Brunoy (Essonne).

Tomocerus minor, espèce hygrophile, se trouve le plus souvent cachée sous les branches et les feuilles mortes qui jonchent le sol. Orchesella villosa et O. cincta sont deux espèces sympatriques qui se rencontrent fréquemment à la surface des débris végétaux, immobiles et directement exposées aux turbulences de l'air. Allacma fusca est une espèce globuleuse, robuste et capable d'effectuer de longs raids hors de la couche de la litière, dans la strate herbacée. Toutes ces positions se modifient au gré des variations du microclimat, et il est très fréquent de trouver ces quatre espèces réunies côte à côte pendant de longues périodes. Elles se partagent apparemment les mêmes sources de nourriture et c'est ce que nous avons voulu vérifier en examinant le produit de leur déjection.

Les individus des quatre espèces ont été récoltés à l'aspirateur à bouche sur quelques décimètres carrés de terrain, le même jour du mois de septembre 1977. Un premier lot d'une vingtaine de spécimens a été placé sur papier filtre humide, afin de recueillir les pelotes fécales qui ont été aussitôt fixées pour la microscopie électronique à transmission (12, 13, 14) ou traitées selon les techniques propres à la microscopie électronique à balayage. Un second lot de même importance a servi à assurer les poids

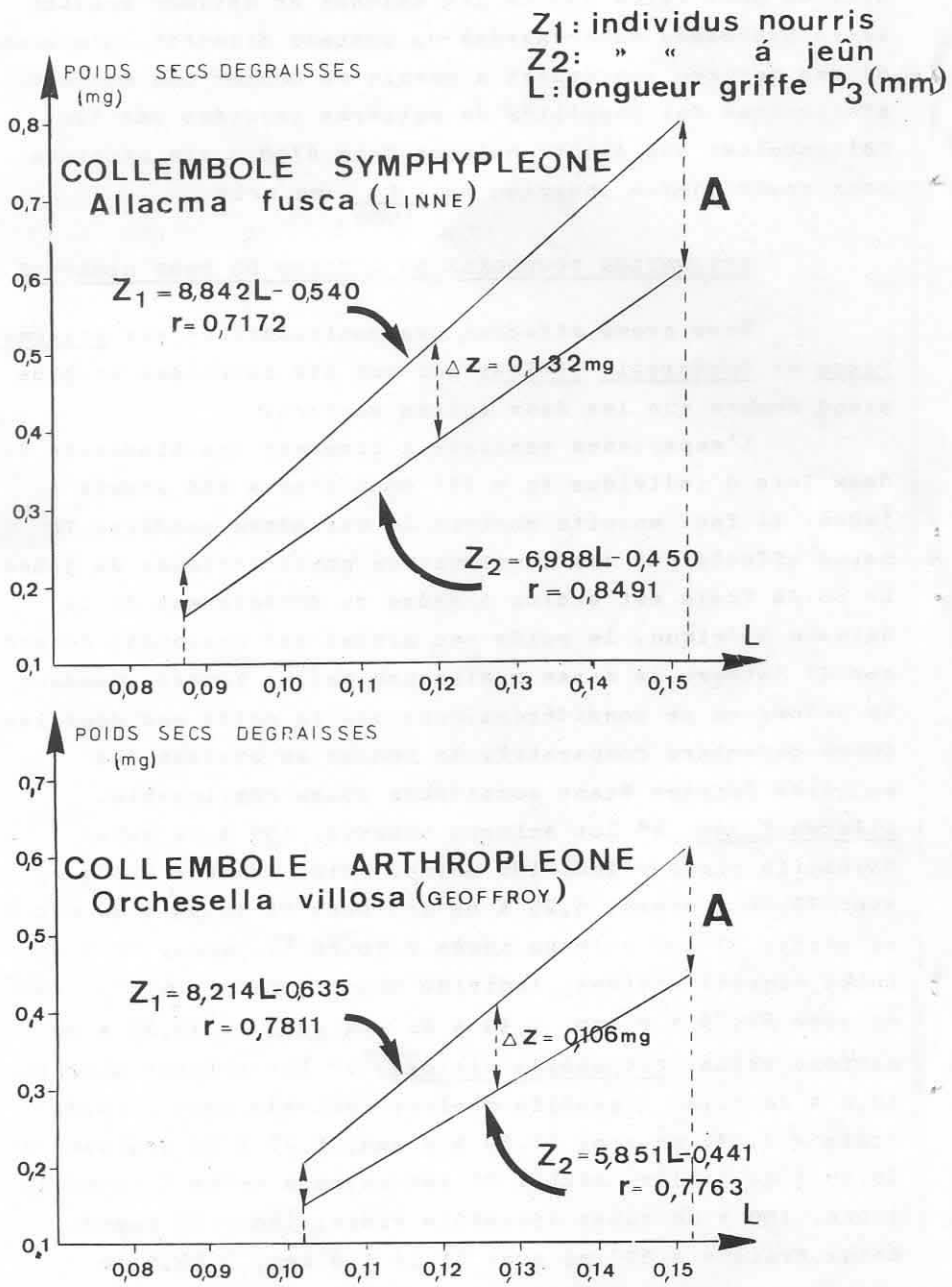
frais, secs et délipidés de chaque individu provenant directement du site de récolte. Enfin un troisième lot a été utilisé pour faire jeûner les animaux et estimer ensuite leurs biomasses débarrassées du contenu digestif. L'ensemble de ces mesures pondérales a permis de donner une estimation statistique des quantités de matières ingérées par les Collemboles; une électrobalance Cahn 4700 a été utilisée pour peser chaque individu au $\frac{1}{1000}$ mg près.

ESTIMATION PONDERALE DU CONTENU DU TUBE DIGESTIF

Nous avons effectué ces manipulations sur Allacma fusca et Orchesella villosa qui ont été récoltées en plus grand nombre que les deux autres espèces.

L'expérience consiste à comparer les biomasses de deux lots d'individus (n = 24) dont l'un a été soumis au jeûne. Il faut ensuite choisir le paramètre pondéral le moins affecté par les conséquences physiologiques du jeûne. Le poids frais est exclus à cause du dérèglement de la balance hydrique, le poids sec global est également écarté car il intègre la masse graisseuse qui se résorbe pendant le jeûne; on ne considèrera donc que le poids sec dégraissé comme paramètre comparatif, la teneur en graisse des matières fécales étant considérée comme négligeable. Allacma fusca: 1° lot animaux nourris, 100 % de tubes digestifs pleins; individu moyen, poids frais = 2,398 mg avec 75,10 % d'eau, 5,25 % de graisses et 19,64 % de matière sèche. 2° lot animaux après 3 jours de jeûne, 96 % de tubes digestifs vides: individu moyen, poids frais = 2,596 mg avec 80,74 % d'eau, 2,54 % de graisses et 16,21 % de matière sèche: Orchesella villosa: 1° lot animaux nourris, 66,6 % de tubes digestifs pleins; individu moyen, poids frais = 2,045 mg avec 73,84 % d'eau, 5,87 % de graisses et 20,29 % de matière sèche. 2° lot animaux après 8 jours de jeûne, 100 % de tubes digestifs vides: individu moyen, poids frais = 1,697 mg avec 81,14 % d'eau, 2,65 % de graisses et 16,21 % de matière sèche.

FIG. 1 : ESTIMATION STATISTIQUE DU CONTENU DIGESTIF : A



La figure 1 montre les droites de régression établies pour les lots de chaque espèce, entre individus avec leur tube digestif plein et ceux débarrassés de leur contenu intestinal. Pour une longueur de griffe P_3 en mm considérée comme un bon critère de taille, l'écart ∂Z en mg entre les deux segments de droite indique le poids sec de matière intestinale retenue par un Collembole:

pour Allacma fusca $\partial Z = 1,854\ L - 0,090$

pour Orchesella villosa $\partial Z = 2,363\ L - 0,194$

ETUDE EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE DES PELOTES FECALES

En MEB, les pelotes fécales de Tomocerus minor semblent essentiellement formées par un enchevêtrement d'hyphes. Souvent ces filaments mycéliens apparaissent intacts et ils présentent tous une surface lisse et un diamètre constant. Certains d'entre eux sont sectionnés. Les spores de champignon n'ont jamais été vues à la surface de ces rejets. Les coupes confirment les observations précédentes. On peut constater la présence de nombreux champignons et pour beaucoup d'entre eux l'ultrastructure apparaît intacte et tous les constituants cellulaires normaux sont présents. Tomocerus minor joue donc un rôle actif de dissémination vis-à-vis de ces germes. Dans d'autres cas, le cytoplasme semble plus altéré et il est fréquent de retrouver des parois seules, le contenu cellulaire ayant été digéré. Accompagnant ces eucaryotes, on observe fréquemment des bactéries qui sont au contact d'amas de parois et de membranes biologiques constituant probablement les résidus de la digestion. Ces procaryotes pénètrent souvent dans ces amas et y provoquent des zones de lyse. Il est probable qu'ils participent à la décomposition des aliments, et ceci déjà à l'intérieur du tube digestif de l'animal. Accidentellement on rencontre d'autres débris: des restants de parois végétales ou des fragments de spores de champignon. Ces résultats sont en accord avec

ceux obtenus par d'autres auteurs travaillant sur la même espèce ou sur des animaux appartenant au même genre (15, 16, 17, 18).

Les déjections d'Allacma fusca ont une forme plus allongée que celles des autres espèces étudiées. Observées en MEB, elles présentent une surface très irrégulière, un aspect compact et les différents éléments constitutifs sont difficilement identifiables. Il est parfois possible cependant de reconnaître un filament mycélien ou une spore fongique. Leur aspect en MET se révèle très homogène. A côté de quelques rares résidus de nature plus ou moins fibrillaire et de quelques membranes biologiques on rencontre de nombreux hyphes intacts accompagnés de spores profondément modifiées. Le cytoplasme est généralement digéré, les différentes couches de la paroi ayant tendance à se séparer. On peut reconnaître une couche externe fibrillaire, une couche intermédiaire fibrillaire, plus compacte et riche en polysaccharides et une couche interne granuleuse. Ce sont surtout les parties externes qui sont attaquées. Les bactéries n'ont pas été rencontrées dans ces fécès au cours de cette étude.

L'observation des fécès d'Orchesella villosa en MEB révèle la présence de fragments mycéliens, ces derniers semblant vides de tout contenu. Mais les principaux constituants de ces rejets sont des éléments plus ou moins sphériques correspondant probablement à des spores de champignon ou à des algues. En MET, on rencontre des filaments mycéliens, peu altérés. Dans certains cas, on constate des repousses fongiques à l'intérieur des anciennes parois. Mais il est plus fréquent de voir des résidus d'algues. Les parois de ces dernières ne sont pas contrastées par le citrate de plomb, par contre elles deviennent très sombres dès que l'on applique la technique préconisée par Thiéry, révélant la présence d'abondantes polysaccharides. Les parois ne semblent que peu altérées, par contre le cytoplasme a disparu, ce qui indique une utilisation

active du contenu cellulaire. Les bactéries n'ont pas été mises en évidence.

Les rejets d'Orchesella cincta ont une forme sphérique et il est impossible de discerner des microorganismes à leur surface, sauf dans de rares cas. Dans l'ensemble ces spores apparaissent intactes, mais elles sont presque toujours brisées par endroit, ce qui permet une utilisation rapide du protoplasme de la cellule. En coupe, les fécès contiennent de très nombreuses algues qui ont une ultrastructure intacte. On peut en particulier reconnaître les lamelles photosynthétiques, les globules lipidiques, etc... Dans certains cas, on assiste à une dégradation de ces structures, mais l'utilisation du contenu cellulaire de l'algue n'est que partielle. Enfin on a rencontré de nombreuses bactéries dans ces rejets, en particulier au contact de débris organiques.

CONCLUSIONS

Les quantités de nourriture absorbées dans la nature par les Collemboles semblent très importantes, si on s'en réfère à la masse de matières fécales rejetée par chaque individu après une courte période de jeûne (20 % par rapport au poids corporel sec).

Dans un travail précédent (19), nous avons mesuré en continu les quantités d'eau contenues dans chaque pelote fécale émise par deux individus de l'espèce Allacma fusca, et nous avons estimé que la masse de matières fécales représente pour l'un et l'autre des individus 12,4 % et 10,6 % de leur poids frais. Ces pourcentages sont encore très élevés, et on serait tenté de déclarer que ces animaux, dont la densité au mètre carré peut excéder plusieurs milliers, ont un impact notable sur la Production primaire. Il n'en est rien, car au cours de leur cycle vital, les Collemboles connaissent des crises physiologiques périodiques (mues) qui les contraignent à

ne plus pouvoir se nourrir. Ceci a été confirmé chez trois espèces de notre étude par d'autres auteurs (20) qui ont montré à différentes époques de l'année que 62 % des Orchesella villosa, 75 % des Orchesella cincta et 58 % de Tomocerus minor possédaient un tube digestif vide. Des observations identiques ont permis de conclure qu'un individu moyen passe de 40 à 50 % de sa vie adulte sans se nourrir (7).

On peut ajouter à la lumière de nos observations que la nourriture ingérée par les Collemboles dans la nature n'est pas entièrement digérée et qu'une partie importante est rejetée sous la forme de microorganismes viables. Cette constatation souligne le rôle des Collemboles dans la dissémination des éléments germinatifs de la microflore du sol.

L'essentiel de l'alimentation de Tomocerus minor semble être constitué par des hyphes, la plupart d'entre eux étant vidés de leur contenu, comme en témoigne la présence de nombreuses parois. Allacma fusca ingère aussi de préférence des champignons, mais les parties digérées sont alors des spores, le mycélium apparaissant intact. Orchesella villosa se nourrit essentiellement d'algues, alors que Orchesella cincta, qui ingère également ces algues en abondance, n'utilise qu'une partie réduite de leur contenu cytoplasmique. Une partie du matériel ingéré par ces deux espèces sympatriques est identique, mais c'est dans les modalités d'attaque de la nourriture utilisée que leur régime alimentaire semble différer. Cette hypothèse est confirmée par la présence abondante de bactéries dans les déjections de Orchesella cincta.

Ces premiers résultats indiquent que les quatre espèces de Collemboles se partagent les ressources alimentaires d'un même biotope restreint, apparemment homogène, et n'entrent pas en concurrence trophique, respectant ainsi la règle de la coexistence interspécifique (21). Ces analyses qualitatives et quantitatives ne

sont évidemment valables que pour un biotope déterminé, à un instant donné, le régime alimentaire des animaux pouvant varier en fonction de la nourriture disponible dans la station.

Les techniques d'analyse quantitative et qualitative que nous avons employées ont été appliquées pour la première fois sur les Collemboles capturés dans la nature. C'est surtout l'observation en microscopie électronique à transmission qui a permis une analyse objective des régimes alimentaires par la mise en évidence des particules nutritives attaquées par les enzymes digestifs. A notre connaissance cette méthode a été uniquement appliquée sur des Acariens (Tyrophagus putrescentiae) mais provenant d'élevage (22). Nous effectuerons par la suite des observations à différents niveaux du tractus digestif des Collemboles, de manière à suivre les principales étapes de la digestion chez des individus capturés dans la nature ou placés en élevage sur des milieux sélectionnés de culture microbiologique.

BIBLIOGRAPHIE

(1) MACNAMARA (C.)- 1924.- The food of Collembola, The Canad. Ent., 56, 5, 99-105

(2) BERNARDI (de F.) et PARISI (V.)- 1968.- Osservazioni sul regime alimentare di alcune specie di Orchesella e Tomocerus (Collembola) in una valle alpina (Val Malenco), Accad. Naz. Lincei, 45, 6, 582-590

(3) KUHNELT (W.)- 1963.- Über der Einflusz des Mycels von Clytocybe infundibuliformis auf die Streufauna, in Soil Organisms, DOEKSEN-VAN DER DRIFT, North Holland Publ. Co, Amsterdam, 281-288

(4) KNIGHT (C.B.) and ANGEL (R.A.)- 1967.- A preliminary study of the dietary requirements of Tomocerus (Collembola), Amer. Midland Natur., 77, 2, 510-517

(5) BODVARSSON (H.)- 1970.- Alimentary studies of seven common soil-inhabiting Collembola of Southern Sweden,

Ent. scand. 1, 74-80

(6) MAC MILLAN (J.H.)- 1975.- Interspecific and seasonal analyses of the gut contents of three Collembola (Family Onychiuridae), Rev. Ecol. Biol. Sol, 12, 2, 449-457

(7) ANDERSON (J.M.) and HEALY (I.N.)- 1972.- Seasonal and interspecific variation in major components of the gut contents of some woodland Collembola, J. anim. Ecol., 41, 359-368

(8) GILMORE (S.K.) and RAFFENSPERGER (E.M.)- 1970.- Food ingested by Tomocerus spp. (Collembola, Entomobryidae), in relation to habitat, Pedobiologia, 10, 135-140

(9) FARAHAT (A.Z.)- 1966.- Studies on the influence of some fungi on Collembola and Acari, Pedobiologia, 6, 258-268

(10) MAC MILLAN (J.H.)- 1976.- Laboratory observations on the food preference of Onychiurus armatus (Tullb.) Gisin (Collembola, Family Onychiuridae), Rev. Ecol. Biol. Sol, 13, 2, 353-364.

(11) CHRISTEN (A.A.)- 1975.- Some fungi associated with Collembola, Rev. Ecol. Biol. Sol, 12, 4, 723-728

(12) RYTER (A.), KELLENBERGER (E.)- 1958.- Etude au microscope électronique de plasma contenant de l'acide désoxyribonucléique. I. Les nucléotides des bactéries en croissance active, Z. Naturforschg., 136, 596-605

(13) THIERY (J.P.)- 1967.- Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique, J. Microscopie, 6, 987-1017

(14) REYNOLDS (E.S.)- 1963.- The use of lead citrate at hight pH as an electron opaque stain in the electron microscopy, J. cell. Biol., 17, 208-212

(15) KNIGHT (C.B.)- 1976.- Seasonal and microstratal dietary research on Tomocerus (Collembola) in two forested ecosystems of eastern North Carolina, Rev. Ecol. Biol. Sol, 13, 4, 595-610

(16) CHRISTIANSEN (K.A.)- 1967.- Competition between Collembolan species in culture jars, Rev. Ecol. Biol. Sol, 4,

3, 439-462

(17) POOLE (T.B.)- 1959.- Studies on the food of Collembola in a Douglas Fir Plantation, Proc. Zool. Soc. Lond., 132, 71-82

(18) SINGH (S.B.)- 1964.- Periodicity in the feeding habit of Tomocerus longicornis (Muller) (Collembola), India J. Ent., 24, 123-124

(19) VANNIER (G.)- 1973.- Régulation de flux d'évaporation corporelle chez un Insecte Collembole vivant dans une atmosphère totalement dessèchée, C.R. Acad. Sc. Paris, t. 277, 85-88

(20) WITH (de N.D.) and JOOSSE (E.N.G.)- 1971.- The ecological effect of moulting in Collembola, Rev. Ecol. Biol. Sol, 8, 1, 111-117

(21) De BACH (P.)- 1966.- The competitive displacement and coexistence principles, A. Rev. Ent., 11, 183-212

(22) REISINGER (O.)- 1973.- Contribution à l'étude ultra-structurale de l'appareil sporifère chez quelques hyphomycètes à paroi mélanisée. Genèse modification et décomposition (Thèse Université Nancy I).